

Znowelizowana wytyczna European Medicines Agency na temat badań równoważności biologicznej

Monika BOGIEL - Instytut Biotechnologii i Antybiotyków; Warszawa

Prosimy cytować jako: CHEMIK 2011, 65, 2, 115-120

Wstęp

Leki generyczne (odtwórcze), będące odpowiednikami oryginalnych produktów leczniczych, stanowią obecnie prawie połowę ze wszystkich stosowanych w Europie preparatów farmaceutycznych. Szacuje się, że są one o 20-90% tańsze niż ich oryginalne odpowiedniki [1], co wynika przede wszystkim z uproszczonej procedury wprowadzania do obrotu: dla leków rejestrowanych jako odtwórcze nie jest wymagane przedstawienie pełnego zakresu badań przedklinicznych i klinicznych. Dla dopuszczenia na rynek konieczne jest jednak wykazanie identyczności (lub równoważności) zawartych w leku substancji aktywnych, mocy i postaci farmaceutycznej w stosunku do preparatu innowacyjnego, a także podobnej jakości, skuteczności i bezpieczeństwa preparatu, potwierdzonych odpowiednimi badaniami.

Zarówno Dyrektywa 2001/83/EC [2], jak i polska ustawa o Prawie farmaceutycznym [3] wymagają potwierdzenia terapeutycznej równoważności preparatu generycznego w stosunku do leku referencyjnego odpowiednimi wynikami badań równoważności biologicznej na ludziach. Pojęcie równoważności biologicznej jest fundamentalne dla leków generycznych.

Dzięki badaniom równoważności możliwe jest stwierdzenie istotności klinicznej zmian technologicznych w seriach leku na różnych poziomach rozwoju technologii, jak również uzasadnienie zamienności produktów leczniczych w praktyce klinicznej. Z tego względu zagadnienie to jest bardzo istotne zarówno dla przemysłu farmaceutycznego, jak i dla instytucji opieki zdrowotnej i ubezpieczycieli.

Nowe zalecenia

1 sierpnia ub.r. weszła w życie znowelizowana wytyczna CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1/Corr** (*Guideline on the investigation of bioequivalence*) dotycząca badań równoważności biologicznej produktów leczniczych [4]. Zastąpiła ona opracowaną w 1998 r., a obowiązującą od 2002 r., wytyczną CPMP/EWP/QWP/1401/98 (*Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence*) [5] i dokument z nią związany - CHMP/EWP/40326/06 (*Question and Answers on Bioavailability and Bioequivalence Guideline*) – Q&A [6]. Wytyczna, będąca w swej prawnej istocie zaleceniami *Committee for Medicinal Products for Human Use* (CHMP) – naukowego komitetu doradczego Europejskiej Agencji Leków (EMA), obecny swój kształt zawdzięcza inicjatywie jednej z grup roboczych CHMP – grupie do spraw farmakokinetyki, która w 2007 r. rozpoczęła dyskusję na temat potrzeby zmian w obowiązującej wtedy wytycznej.

Zatwierdzenie noweli przez CHMP w styczniu 2010 r., a następnie jej wejście w życie było niewątpliwie ważnym wydarzeniem dla przemysłu farmaceutycznego (przede wszystkim generycznego), jak i dla osób i instytucji zaangażowanych w prace nad badaniami równoważności biologicznej. W środowiskach tych od dawna dyskutowało się o potrzebie zmian w prawodawstwie dotyczącym sposobu projektowania i prowadzenia badań równoważności. Zgłaszano wielokrotnie potrzebę doprecyzowania i uzupełnienia, a często także zmian zapisów w obowiązującej wytycznej. Odpowiedzią na te głosy było wydanie przez CHMP w 2006 r. dokumentu odnoszącego się do najczęściej zgłaszanych problemów w formie pytań i odpowiedzi

na nie [6]. Pomimo to, europejskie zalecenia nadal pozostawały mało szczegółowe i dalekie od praktyki, w porównaniu np. z amerykańskimi wytycznymi FDA (*Food and Drug Agency*).

Nowa wytyczna jest dopracowana pod względem formalnym, ma przejrzystą i logiczną strukturę, zawiera też bardziej jednoznaczne stwierdzenia niż jej poprzedniczka. Zawarto w niej wiele szczegółowych problemów związanych z badaniami równoważności biologicznej. W samodzielnych rozdziałach odnosi się do wszystkich kwestii poruszanych wcześniej w dokumencie Q&A [6].

Obszar działania wytycznej

Wraz z nowelizacją uległ zmianie zakres i obszar działania wytycznej. O ile poprzednia wersja obejmowała definicje, cele i metodykę badań dostępności biologicznej, w tym ich szczególnego przypadku – badań równoważności biologicznej, ta dotyczy tylko i wyłącznie tematu badań równoważności biologicznej produktów leczniczych. Zawęża to obszar jej działania, wykluczając z niego badania losów leków w ustroju, prowadzone na różnych poziomach rozwoju leku (m.in. badania stopnia dostępności dla nowych substancji, różnic w absorpcji pomiędzy różnymi postaciami, dawkami tego samego leku itp.), ale daje możliwość doprecyzowania specyficznych dla równoważności biologicznej zaleceń.

Dodatkowo, zapisy w samej wytycznej ograniczają jej zastosowanie nawet w wielu przypadkach badań równoważności biologicznej. Zapisano bowiem, że jej zalecenia dotyczą jedynie preparatów działających ogólnie, o klasycznym (natychmiastowym) sposobie uwalniania substancji czynnej, są ograniczone do leków zawierających jako substancję aktywną cząsteczkę chemiczną (*chemical entity*), nie mają w zasadzie zastosowania do leków ziołowych i ograniczają się do przedstawienia wymagań dla badań opartych na farmakokinetycznych punktach końcowych. Wyłącza to w zasadzie spod bezpośrednich rekomendacji wytycznej sporą grupę nowoczesnych, i obecnie coraz częściej leżących w zainteresowaniach firm farmaceutycznych, produktów leczniczych, a więc – preparaty o modyfikowanym uwalnianiu, leki biologiczne, preparaty ziołowe i naturalne. Wytyczna nie zawiera też zapisów specyficznie odnoszących się do preparatów złożonych.

Celem znowelizowanej wytycznej, jak podano w jej wstępie, jest przedstawienie wymagań EMA w zakresie projektowania, prowadzenia i oceny badań równoważności biologicznej leków oraz określenie warunków zastąpienia ich badaniami *in vitro*.

Najważniejsze zmiany

Najbardziej istotne zmiany w znowelizowanej wersji wytycznej dotyczą modelu badania (m.in. wprowadzenie tzw. *two-stage design*), zasadności wyboru oznaczanej substancji (metabolity, enancjomery), kryteriów akceptacji statystycznej dla uznania równoważności oraz warunków odstąpienia od badań *in vivo* (*biowaivers, bracketing approach*).

Wytyczna, skupiając się w zasadzie jedynie na badaniach wykonywanych w celu rejestracji produktów generycznych, ma ambicje odpowiedzi na większość problemów identyfikowanych już od dawna w badaniach równoważności biologicznej [7]. Rzeczywiście, w stosunku do poprzedniej wersji, dużo więcej miejsca zostało poświęcone szczegółowemu omówieniu sposobu prowadzenia badań dla substan-

cji endogennych, enancjomerów, leków o wysokiej zmienności i produktów o wąskim indeksie terapeutycznym. Bardziej szczegółowo odniesiono się także do kwestii wykorzystania moczu jako materiału biologicznego.

Model badania

Zasadniczo znowelizowana wytyczna uzupełnia zapisy poprzedniej wersji. Pryncypia pozostają niezmienione. Jako podstawowy model obowiązuje nadal krzyżowy układ badania, po jednorazowym podaniu preparatu na czczo. Sprecyzowano przy tym warunki dla zastosowania alternatywnych modeli badawczych: badań na grupach równoległych, badań w układzie z powtórzeniem, czy badań po wielokrotnym podaniu leków, których prowadzenie nowa wytyczna ogranicza do szczególnych przypadków, np. kiedy ze względu na toksyczność substancji aktywnej leku nie należy podawać ochotnikom, a podanie jednorazowej dawki pacjentom nie jest etyczne.

Najmniej zmian i uzupełnień znalazło się w rozdziale na temat uczestników i standaryzacji badań. Badania należy prowadzić na grupie zdrowych ochotników, którzy mogą należeć do obu płci i podlegać kwalifikacji geno- lub fenotypowej. Zgodnie z poprzednią wersją za minimalną liczebność grupy badanej uznano 12 uczestników. Jest to liczebność teoretyczna, w zasadzie nie spotykana już w badaniach wykonywanych w celach rejestracyjnych. Sens tego zapisu staje się bardziej aktualny w powiązaniu z dopuszczeniem możliwości wykonywania badania w etapach (tzw. *two-stage design*). W tym kontekście liczebność pierwszego etapu nie powinna być mniejsza niż 12 osób.

Szczegółowo opisano w wytycznej sposób wyboru preparatu odniesienia, podkreślono znaczenie wyników testów uwalniania *in vitro* (równoważność farmaceutyczna) w wyborze właściwej serii preparatu odniesienia i w przygotowaniu preparatu badanego do oceny równoważności biologicznej. Uporządkowano zawarte również w poprzedniej wersji wytycznej informacje na temat warunków, jakie muszą być spełnione przy dopuszczeniu preparatu testowego do badań.

Zastosowanie schematu badania po posiłku ograniczono właściwie do sytuacji, gdy w charakterystyce leku referencyjnego jest to jedyny zalecany sposób przyjmowania preparatu. W przypadku niektórych postaci leku (mikroemulsje, układy dyspersyjne cząsteczek stałych) wytyczna zaleca wykonanie zarówno badań na czczo, jak i po posiłku. Dla badań prowadzonych po posiłku szczegółowo opisano sposób podawania preparatu wraz z pokarmem, a także skład standardowego posiłku podczas badania wpływu pokarmu.

Ze względu na przygotowywany jednocześnie niezależny dokument dotyczący metodyki bioanalitycznej [8], problem analizy badanych związków został ograniczony do niezbędnego minimum. Potwierdzono brak akceptacji dla powtórnej analizy próbek z powodów farmakokinetycznych i stwierdzono niedopuszczalność takiej praktyki bez uwzględnienia jej wcześniej w protokole badania. Podano również, że analiza materiału powinna odbywać się z zachowaniem zasad utajnienia badanych preparatów (trzeci poziom zaślepienia badania).

Zasadniczo podtrzymano wskazania dotyczące częstości pobierania próbek krwi do badań farmakokinetycznych. Zwrócono uwagę na dobór czasów pobrań, by uniknąć oznaczenia stężenia maksymalnego już w pierwszej próbce. Dodatkowo, znowelizowana wytyczna wprowadza możliwość zakończenia próbkowania na 72 godzinie dla leków o długim okresie półtrwania (wyznaczanie parametru AUC_{0-72h} , zamiast AUC).

Zdecydowanie i bardzo obszernie zajęto się kwestią oznaczanych w badaniu substancji. Eksperti CHMP za najbardziej wiarygodne dla wychwycenia różnic pomiędzy preparatami uznali stężenia we krwi leku macierzystego (tzn. niezmienionej metabolicznie substancji wprowadzanej do organizmu w danej postaci leku). Nowa wytyczna podkreśla, że przy obecnie dostępnych, czułych i dokładnych metodach analitycznych, standardem powinno być potwierdzenie rów-

noważności biologicznej na podstawie pomiarów stężeń substancji niezmienionej. Zasada ta obowiązuje również w przypadku pro-leków. W bardzo szczególnych sytuacjach (niskie poziomy stężenie leku niezmienionej we krwi, szybka eliminacja substancji niezmienionej) wytyczna dopuszcza możliwość oznaczania głównego aktywnego farmakologicznie metabolitu, po bardzo szczegółowym merytorycznym uzasadnieniu i udowodnieniu obiektywnego braku możliwości wyboru innego postępowania.

Bardzo szczegółowo została przedstawiona w znowelizowanej wytycznej kwestia warunków odstąpienia od badań równoważności biologicznej dla różnych mocy (*strengths*) tego samego preparatu. Nowością jest wprowadzenie terminu i rekomendacja tzw. *bracketing approach*, tzn. wykonywania badań tylko dla skrajnych mocy (lub najbardziej odmiennych technologii).

Zagadnienie odstąpienia od badań *in vivo* na podstawie klasyfikacji BCS i pozytywnych wyników poszerzonych badań *in vitro* jest kolejnym tematem dokładnie omówionym w nowej wersji wytycznej, podobnie jak i metodyka badań uwalniania *in vitro*, uzupełniających lub zastępujących badania równoważności. Oprócz odpowiednich rozdziałów w tekście, poświęcono tym tematom również obszernie załączniki.

Ocena statystyczna wyników

Doprecyzowano problematyczne zapisy dotyczące statystycznej oceny wyników badań. Jednoznacznie określono pierwszorzędowe parametry świadczące o równoważności biologicznej. Są to: AUC_t (lub AUC_{0-72h}) i C_{max} – dla badania po jednorazowym podaniu i AUC_{0-t} i $C_{max,ss}$ – dla badań w stanie stacjonarnym lub Ae_{0-t} i R_{max} – dla badań z użyciem moczu jako materiału biologicznego. Potwierdzono, że statystyczna ocena parametru t_{max} nie jest wymagana w ocenie równoważności biologicznej.

Uściślono kwestię kryteriów akceptacji dla pierwszorzędowych parametrów farmakokinetycznych. Według nowych zapisów, zakres akceptacji dla 90% przedziału ufności stosunku leku badanego do referencyjnego, zarówno w przypadku AUC jak i C_{max} standardowo musi się zawierać w granicach 80,00-125,00%. Dopuszczono możliwość poszerzenia przedziału akceptacji dla C_{max} jedynie dla leków o wysokiej zmienności, dla których różnice maksymalnego stężenia nie mają znaczenia klinicznego (maksymalnie do granic: 69,84-144,19%). Dla leków o tzw. wąskim indeksie terapeutycznym rekomendowane są zawężone kryteria (90,00 – 111,11%).

W nowej wytycznej więcej miejsca, w stosunku do poprzedniej wersji, poświęcono również na przedstawienie warunków odrzucania wyników w trakcie analizy statystycznej.

Niewątpliwie jedną z najbardziej spektakularnych nowości, mającą zasadniczy wpływ na praktykę wykonywania badań równoważności jest możliwość zatrzymania badania po pierwszym jego etapie i stwierdzeniu równoważności biologicznej lub jej braku (*two-stage design*). Możliwe staje się wyliczenie ostatecznej liczebności ochotników w oparciu o zmienność parametrów farmakokinetycznych wyznaczonych w pierwszym etapie wykonywanego badania. Pozwala to na zakończenie badania z negatywnym wynikiem na mniejszej liczbie uczestników, niż w przypadku klasycznego podejścia lub zredukowanie liczby ochotników poprzez precyzyjne jej wyszacowanie już w trakcie eksperymentu.

Ponadto wprowadzono do nowej wytycznej również kilka zapisów formalnych nieobecnych w poprzedniej wersji. Najważniejszymi wydaje się być konieczność prowadzenia badania zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Klinicznej, określonymi Dyrektywą 2001/20/EC, wymóg wytwarzania i pakowania badanych preparatów zgodnie z GMP, w indywidualne opakowania, osobno dla każdego pacjenta i okresu badania. Została również sformułowana zachęta dla wytwórców do poszukiwania w CHMP konsultacji merytorycznych dla projektowanych badań (tzw. *Scientific Advice*).

Podsumowanie

Podsumowując należy stwierdzić, że wielką wartością przedstawionych przez CHMP znowelizowanych wymagań jest uporządkowanie pojęć i jednoznaczne zaprezentowanie standardowego kształtu badania równoważności biologicznej. Ten „złoty standard” to badanie krzyżowe po jednorazowym podaniu leku na czczo, na grupie zdrowych ochotników, z podstawowymi parametrami AUC i C_{max} wyznaczonymi na podstawie stężenia we krwi substancji nie zmienionej. Wszystkie inne modele badawcze, według zapisów wytycznej, są zarezerwowane dla przypadków szczególnych. Problemem jest tylko to, że obecnie, wobec coraz intensywniejszych badań nad lekiem i coraz nowocześniejszych technologii wytwarzania, szczególnych przypadków jest wyjątkowo dużo.

Zawężenie obszaru obejmowanego przez nową wytyczną, mające uzasadnienie w bardziej dokładnym potraktowaniu głównego tematu, skutkuje ewidentnym usztywnieniem stanowiska EMA w zakresie ewentualnych modyfikacji metodologii badań równoważności wykonywanych w celach rejestracyjnych. Zapisy wytycznej nie pozwalają praktycznie na podjęcie próby indywidualnego potraktowania problemów napotkanych w konkretnym projekcie. Wytyczna przewiduje co prawda możliwość starania się o uznanie poprawności zastosowania niestandardowego podejścia w konkretnej sprawie, ale jest to możliwość czysto teoretyczna, o czym wiedzą wszyscy, którzy zatknęli się z procedurami rejestracyjnymi w Europie.

Powtarzający się wielokrotnie w wytycznej, arbitralny zapis mówiący o możliwości oznaczenia w zasadzie każdego związku, w każdej ilości, z analityczną pewnością, upewnia agencje i ich ekspertów w stosowaniu standardowego postępowania w każdym wypadku. Często dzieje się również i tak, że wymagania metodologiczne i kryteria oceny, zgodne z duchem literą wytycznej, stosuje się automatycznie również do leków teoretycznie nieobjętych jej zapisami, np. dla preparatów o zmodyfikowanym uwalnianiu, czy biofarmaceutyków.

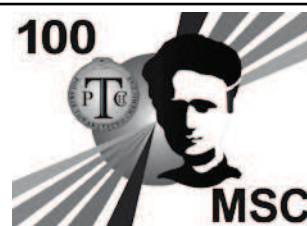
Badanie równoważności biologicznej jest badaniem specyficznym. Nie jest uznawane wprost za badanie kliniczne, gdyż jego głównym celem nie jest odkrycie nowych właściwości substancji leczniczej, lecz potwierdzenie braku różnic między badanymi produktami leczniczymi, a *de facto* – różnymi technologiami wytwarzania. Krzyżowy układ badania, staranna standaryzacja warunków i metodyki badania oraz wąskie kryteria akceptacji, służą temu celowi i zbliżają metodologicznie badania równoważności do jakościowych badań analitycznych. Jednakże wyników klinicznych nie da się wystandaryzować w sposób podobny do metod farmakopealnych. Dlatego trudno się spodziewać, by nawet tak aktualna i precyzyjna wytyczna, jaką otrzymaliśmy od CHMP w poprzednim roku, była w stanie objąć swym zakresem wszystkie możliwe przypadki, mogące pojawić się w praktyce. Jest ona na pewno krokiem w dobrym kierunku, oczekiwanym i ogólnie dobrze przyjętym. Pora chyba jednak na ciąg dalszy – szczegółowe wskazania dotyczące konkretnych leków. Może zasadne na tym etapie byłoby skorzystanie z doświadczeń FDA, która od 2007 r. publikuje indywidualne, lakoniczne, acz wystarczające, zalecenia dotyczące projektów badań dla konkretnych substancji aktywnych w określonej postaci farmaceutycznej tzw. *Individual Product Bioequivalence Recommendation*. Czas pokaże, czy również instytucje europejskie zechcą pójść tą drogą.

Literatura

1. The Overall Contribution of Generic Medicines to Healthcare & Enterprise. Informacje na stronie: www.egagenerics.com 2011.
2. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and the Council of 6 November 2001 on the Community Code Relating to Medicinal Products for Human. Official Journal L – 31 I, 28/11/2004, p. 67 – 128.
3. Ustawa Prawo farmaceutyczne z dnia 6 września 2001 r. z późn. zm. Dz.U. z 2008 nr 45 poz. 271.
4. Guideline on the investigation of bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1/Corr**.

5. Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98.
6. Question and Answers on Bioavailability and Bioequivalence Guideline. CHMP/EWP/40326/06.
7. Marzo A. Open questions on bioequivalence: some problems and some solutions. *Pharmacological Research*, Vol. 40, No4, 1999.
8. Draft guideline on validation of bioanalytical methods. London, 19 November 2009. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009.

Mgr farm. Monika BOGIEL jest pracownikiem Instytutu Biotechnologii i Antybiotyków w Warszawie, gdzie od ponad 10. lat zajmuje się projektowaniem i oceną badań równoważności biologicznej. Autorka i współautorka publikacji z tej dziedziny (m.in. 3. rozdziałów w podręczniku: *Badania dostępności i równoważności biologicznej* pod redakcją dr. n. med. A. Marca), prelegentka na otwartych szkoleniach na temat badań równoważności biologicznej, szkoleniach podyplomowych dla farmaceutów i zajęciach dla studentów z zakresu biofarmacji na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. Doktorantka WUM.



Obchody Międzynarodowego Roku Chemii IYC 2011 i Roku Marii Skłodowskiej-Curie MSC-100 – planowane wydarzenia

- 16-18 lutego 2011, Kraków; HITY 2011 – Szkolenie w zastosowaniu teorii w badaniach molekularnych; Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN
- 23-24 lutego 2011, Katowice; IV Międzynarodowe Targi Przemysłu Chemicznego EXPOCHEM 2011; Zarząd Targów Warszawskich SA, PTChem
- marzec 2011, Pałac Staszica Warszawa; 2-dniowa konferencja o MSC dla młodzieży oraz innych zainteresowanych; PTChem, Muzeum MSC, Archiwum PAN
- 8 marca 2011, godz. 12.00, Wydział Chemii UW, Warszawa; Otwarcie Sali Marii Skłodowskiej-Curie, Otwarcie sesji posterowej pt. „Aktualności naukowe Wydziału Chemii UW”; Wydział Chemii UW, PTChem, Muzeum MSC
- 9-11 marca 2011, Warszawa; XII Międzynarodowe Targi Analityki i Technik Pomiarowych, EuroLab 2011; MT Targi
- 16-18 marca 2011, Kraków; XLIII Ogólnopolskie Kolokwium Katalityczne (przewidziana jest sesja dot. roli kobiet w polskiej katalizie); Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN, PTChem
- kwiecień 2011, Uniwersytet w Bradze; Wystawa o MSC w Portugalii; PTChem, Muzeum MSC
- 3-5 kwietnia 2011, Toruń; II Konferencja Naukowa Monitoring i analiza wody. Chromatograficzne metody oznaczania substancji o charakterze jonowym; KChA PAN, PTChem, WCh UMK, A.G.A. Analytical
- 6-9 kwietnia 2011, Warszawa; IX Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Organicznej; PAN (Komitet Chemii), Instytut Chemii Organicznej PAN, UW
- 8-10 kwietnia 2011, Pałac Staszica Warszawa; Posiedzenie Biura IUPAC; PAN (Komitet Chemii)
- 14-15 kwietnia 2011, Wydział Chemii UW, Warszawa; Konferencja nt. alternatywnych, odnawialnych źródeł energii; Wydział Chemii UW, PTChem, Muzeum MSC